THESIS MUNICH 1966

BEITRÄGE ZUR ENZYMOLOGIE DES LACTAT-DEHYDROGENASE ERHÖHENDEN AGENS (LDH-AGENS) (VERHALTEN WÄHREND DER AUTOLYSE)

Peter Jacob

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154016_0082

AUS DEM PATHOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Prof. Dr. W. BÜNGELER

BEITRÄGE ZUR ENZYMOLOGIE DES LACTAT-DEHYDROGENASE ERHÖHENDEN AGENS (LDH - AGENS)
(Verhalten während der Autolyse)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Peter Jacob

aus Berlin

München 1966

LEIDIG-DRUCK, 8000 München 25, Schöttlstr. 9, Tel. 77 26 33

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. W. BÜNGELER
Dekan: Professor Dr. M. KIESE
Tag der mündlichen Prüfung: 13. 12. 66

Schon seit längerer Zeit ist eine Aktivitätssteigerung der Laktatdehydrogenase im Serum (SLDH) von Mäusen nach experimenteller Übertragung von Leukämiezellen und transplantierbaren Tumoren bekannt. (C. MANSO u. Mitarbeiter (21), B.R. HILL and R.T. JORDAN (17), Ch. FRIEND and F. WROBLEWSKI (9)). Später fanden V. Riley (V. RILEY 31) und nach ihm andere Autoren (H. BAYERLE u. Mitarb. (4), (5), A. GEORGII u. Mitarb. (12), (13), (14), (15), J. MUNDY a. P.C. WILLIAMS (22), P.G.W. PLAGEMAN a. H.E. SWIM (28), A.L. NOTKINS u. Mitarb. (23), (24), J.M. BAILY u. Mitarb. (2)), daß diese Fermenterhöhung durch ein subzelluläres Agens hervorgerufen wird, das in fast allen Transplantationstumoren der Maus gefunden wurde. Im menschlichen Tumorgewebe konnte bisher ein ähnliches Agens nicht nachgewiesen werden (C.G. CRISPENS (8), H.M. RAUEN u. H. HUPE (30)), obwohl bei verschiedenen Karzinomen und Leukämien des Menschen eine Erhöhung der Serum-LDH auftreten kann (K.M. HSIEH u. H.T. BLUMENTHAL (18)).

Wesentliche Eigenschaften dieses später nach Riley benannten Agens sind seine zellfreie Übertragbarkeit in jeder Form (V. RILEY u. Mitarb. (34), A.L. NOTKINS u. Chr. SCHEELE (26)), die bei normalen Empfängermäusen eine Aktivitätssteigerung der LDH und anderer Serumfermente hervorruft (A.L. NOTKINS u. Mitarb. (25), P.G.W. PLAGEMAN u. Mitarb. (27)); und seine fortlaufende Passagierbarkeit durch Serumüberimpfung agensinfizierter Tiere (A. GEORGII u. Mitarb. (13), J. MUNDY u. P.C. WILLIAMS (22), V. RILEY u. Mitarb. (31), (34), H.M. RAUEN u. H. HUPE (3o)).

Neben diesen Eigenschaften liegen Hinweise für die Virusnatur des LDH-Agens in seiner Filtrierbarkeit durch Bakterienfilter (V. RILEY u. Mitarb. (31), (36)) und in dem direkten elektronenmikroskopischen Nachweis (H.A. BLADEN u. A.L. NOTKINS (6)).

Wenn auch einige Autoren berichten, daß durch das LDH-Agens bei den Empfängermäusen Tumore hervorgerufen werden können (Ch. FRIEND (10), A. GRAFFI u. Mitarb. (11)), wird das Agens von den meisten anderen Autoren als "passenger agent", als Begleitvirus angesehen, das mit anderen tumorerzeugenden Viren nicht identisch ist und bei infizierten Mäusen außer einer Fermenterhöhung im Serum keine weitere Schädigung verursacht (A. GEORGII u. Mitarb. (14), H.M. RAUEN u. H. HUPE (30), A.L. NOTKINS u. Mitarb. (24)).

Über das Verhalten des LDH-Agens auf Zellkulturen liegen einander widersprechende Angaben vor: Während Yaffe die Möglichkeit der Züchtung durch Vermehrung des Agens in vitro bejaht (D. YAFFE (38)), konnte von anderen Autoren diese Vermehrung in vitro nicht bestätigt werden; das Agens war in

den Gewebekulturen nach kurzer Zeit nicht mehr nachweisbar (A.L. NOTKINS u. Mitarb. (24), R.W. TENNANT u. Th.G. WARD (37), I. LENZ (20)).

Verschiedene äußere Faktoren führen zur Inaktivierung des LDH-Agens: Erhitzung (V. RILEY u. Mitarb. (31), K. PRECHTL (29)), hochdosierte Röntgenbestrahlung (A.L. NOTKINS u. Mitarb. (24)), verschiedene Chemikalien und wiederholtes Einfrieren (A.L. NOTKINS u. Mitarb. (24), K. PRECHTL (29)).

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir das Verhalten des LDH-Agens in vitro unter sterilen Bedingungen bei 37°C und die Faktoren, durch die es bei der verwendeten Versuchsanordnung beeinflußt wird.

Anlaß für unsere Versuche war die Frage, in welchem Ausmaß die nach Tumorimplantation rasch einsetzende Erhöhung der Serum-LDH der Empfängertiere auf das zellfrei wirksame Agens oder auf die Freisetzung von Fermenten aus den sich vermehrenden Tumorzellen zurückzuführen ist. Diese Enzymfreilegung könnte eine Folge des Zelluntergangs und der Kernzerstörung von Tumorzellen sein, oder auch auf einer Permeabilitätsänderung der Tumorzellmembran beruhen, wodurch ein Einströmen von Enzymen in das Serum ermöglicht würde.

Es war nun zu prüfen, ob die Aktivitätssteigerung der Serum-LDH der mit zellfreien Tumorextrakten beimpften Empfängermäuse zum Teil auf die Übertragung von Enzymproteiden aus dem Ausgangsmaterial im Sinne einer Infusion - ("influx" in der angelsächsischen Literatur) - zurückzuführen ist.

Zur Klärung solcher Fragen auf experimentellem Weg schien uns die Untersuchung autolytisch veränderter Zellen zweckmäßig und vorteilhaft.

Bei der Inkubation organischen Materials bei 37°C unter sterilen Bedingungen erfolgt bekanntlich eine "Autolyse", d.h. eine Selbstauflösung durch zelleigene Fermente, die durch die durchlässig gewordene Zellmembran in das umgebende, flüssige Medium freigesetzt werden. Zur Untersuchung des möglichen Einflusses injizierter Fermentkomplexe auf die Serumfermente von Empfängertieren war also das Autolysat einer organischen Substanz als geeignetes Ausgangsmaterial anzusehen.

Wir untersuchten deshalb Autolysate des Ehrlich-Ascites-Tumors, in dem von anderen Autoren (V. RILEY u. Mitarb. (31), H. BAYERLE u. Mitarb. (4), (5)) das LDH-Agens nachgewiesen wurde, auf ihre LDH-aktivierende Wirksamkeit im Serum von Empfängermäusen - in Abhängigkeit vom Fermentverlauf im autolysierten Ausgangsmaterial.

Da wir annehmen konnten, daß das LDH-Agens als virusähnliches Partikel zur Aufrechterhaltung seines Stoffwechsels und zu seiner Vermehrung auf lebende Zellen angewiesen war, erschien seine Inaktivierung durch eine längere Autolyse als wahrscheinlich.

Wenn nun die zunächst erhöhten Serumfermente der mit dem Autolysat des Ehrlich-Ascites-Tumors (EAT) beimpften Empfängertiere nach längerer Autolyse des Ausgangsmaterials auf Normalwerte zurückgingen, während gleichzeitig im Autolysat hohe Fermentaktivitäten meßbar waren, dann konnte das LDH-

Agens als die alleinige Ursache der erhöhten Serumfermente der Empfängertiere angesehen werden.

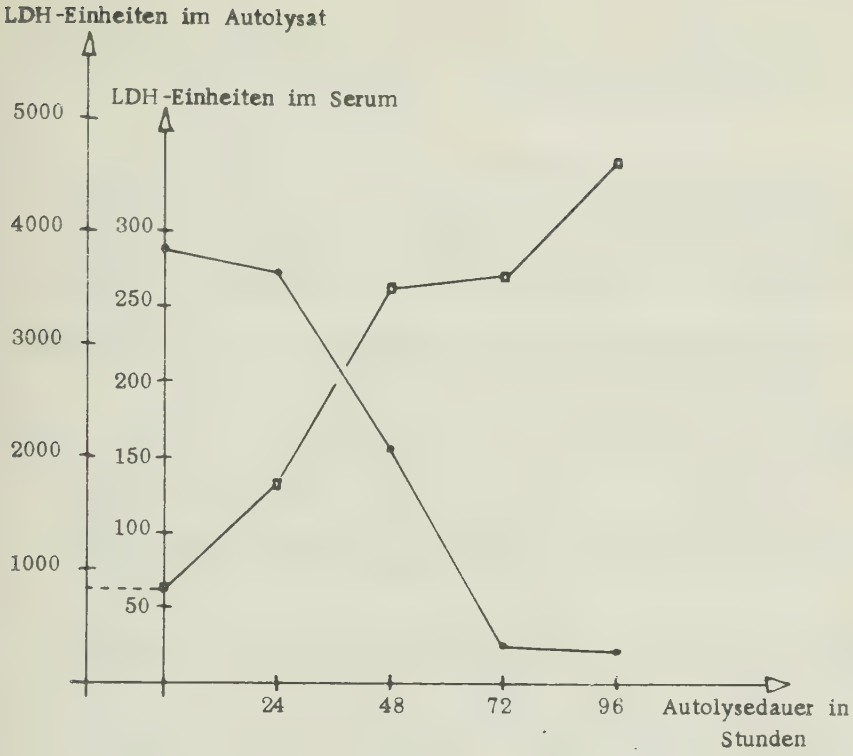
Versuchsanordnung:

Der Ehrlich-Ascites-Tumor wurde in wöchentlichen Intervallen durch intraperitoneale Injektion von 0,3 - 0,5 ml des Tumormaterials auf unbehandelte Empfängermäuse übertragen. 10 - 12 Tage nach Beimpfung wurde der Ascitestumor steril entnommen und unter Zusatz von Streptomycin (0,1 ml einer 1%-igen Lösung auf 10 ml Ascitesflüssigkeit) bei 37°C im Brutschrank inkubiert, d.h. der Autolyse ausgesetzt. (Nach J. Martyn BAILY u. Mitarb. (2) ist das LDH-Agens gegen Antibiotica unempfindlich). In täglichen Abständen wurde dem Ansatz Versuchsmaterial entnommen. Nach zweimaligem Zentrifugieren für je 20 min bei 6000 U/min wurden 0,3 ml des zellfreien Überstandes an Gruppen von 3 - 6 unbehandelten Empfängermäusen (NMRI-Mäuse aus der Zuchtanstalt WIGA) intraperitoneal injiziert.

3, 7 und 21 Tage nach der Beimpfung mit zellfreiem Tumorautolysat wurde den Empfängertieren durch Orbitalpunktion Blut entnommen (V. RILEY (33)). Die Serumgewinnung erfolgte durch Zentrifugieren des Blutes bei ca. 1000 U/min für 10 Minuten.

Die Fermentaktivitäten im Serum der Empfängertiere wurden mit Hilfe des bekannten optischen Tests im UV-Spektrophotometer (Eppendorf) bestimmt. Die Werte wurden in Einheiten nach Bücher angegeben.

Aus den Einzelwerten der Serumfermente der Empfängertiere wurde der arithmetische Mittelwert für jede Versuchstiergruppe berechnet. Der Verlauf der Serumfermentkurven in Fig. 1 - 6 wurde durch Berechnung des arithmetischen Mittelwertes der Ergebnisse aus 2 - 5 Versuchsreihen bestimmt.



FIGUR 1

Verlauf der Serum-LDH der beimpften Empfängertiere nach 0- bis 96-stündiger Autolyse des Ascitestumors.

LDH-Aktivität im Autolysat

Ergebnisse und Diskussion:

Fig. 1 zeigt den Verlauf der Serum-LDH von Empfängertieren, die mit zellfreiem Überstand des autolysierten EAT in täglichen Intervallen beimpft wurden.

Die Serum-LDH fällt von einem Ausgangswert, der etwa das 10-fache der normalen Aktivität zeigt, bis zum 5-fachen Normalwert nach 48-stündiger Autolyse des Tumormaterials ab und erreicht nach 72- und 96-stündiger Autolyse des Ansatzes Normalwerte. Gleichzeitig stieg die LDH-Aktivität im Autolysat laufend an und erreichte Werte bis 4500 Einheiten.

Die LDH-aktivierende Fähigkeit des Tumorautolysats verhielt sich also umgekehrt proportional zum Fermentgehalt der Ausgangslösung.

Die Ergebnisse zeigen klar, daß bei der Aktivierung der Serum-LDH von Empfängertieren durch Injektion von autolysiertem EAT eine Übertragung von fermentreichen Proteinen keine Rolle spielt. Es muß daher angenommen werden, daß die Erhöhung der Serum-LDH der Empfängertiere durch ein zellfrei übertragbares Agens hervorgerufen wird, das am 3. Tag der Autolyse inaktiviert wird, bzw. durch die verwendeten Methoden nicht mehr nachweisbar ist.

Die durch dieses Agens hervorgerufene Fermenterhöhung im Serum der Empfängertiere ließ sich - auch in ihrer abgeschwächten Form nach 24- und 48-stündiger Autolyse des Ausgangsmaterials - noch nach 7 und 21 Tagen nachweisen. Nach Überimpfung von Serum dieser Versuchstiere an unbehandelte Empfängermäuse zeigten diese ebenfalls eine significant gesteigerte LDH-Aktivität im Serum.

Auf Grund dieser Eigenschaften - der LDH-Spezifität, der langanhaltenden Wirksamkeit im Serum von Empfängertieren und der Übertragbarkeit durch Serumüberimpfung - (H. BAYERLE u. Mitarb. (4), A. GEORGII u. Mitarb. (12), (13)) - muß die Aktivitätssteigerung der Serum-LDH von Empfängermäusen durch Autolysate des EAT auf das von Riley entdeckte LDH-Agens zurückgeführt werden.

Es wird in der Literatur berichtet (H. BAYERLE u. Mitarb. (4), A.L. NOTKINS u. Mitarb. (25), P.G.W. PLAGEMAN u. Mitarb. (27)), daß durch dieses Agens außer LDH noch weitere Fermente - u.a. die Malatdehydrogenase (MDH) und die Glutamat-Oxalazetat-Transaminase (GOT) - im Serum von Empfängertieren in ihrer Aktivität gesteigert werden. Es war daher für uns von Interesse, wie sich diese Fermente im Vergleich zur LDH verhalten, wenn die Empfängertiere - entsprechend dem ersten Versuch - mit autolysier-

tem, agenshaltigem Tumormaterial in täglichen Intervallen beimpft werden. Wenn das LDH-Agens die alleinige Ursache für die Aktivitätssteigerung der verschiedenen Fermente im Serum von agensinfizierten Empfängertieren war, dann konnte für MDH und GOT ein der LDH-Kurve in Fig. 1 entsprechender oder ähnlicher Verlauf erwartet werden.

Material und Methodik entsprachen dem ersten Versuch.

Fig. 2 und Fig. 3 (S. 10 und 11) stellen den Verlauf der Serumfermente MDH und GOT von Empfängertieren nach Beimpfung mit zellfreiem Überstand des autolysierten Tumormaterials dar. Gleichzeitig wurde der Fermentgehalt in der Ausgangslösung bestimmt.

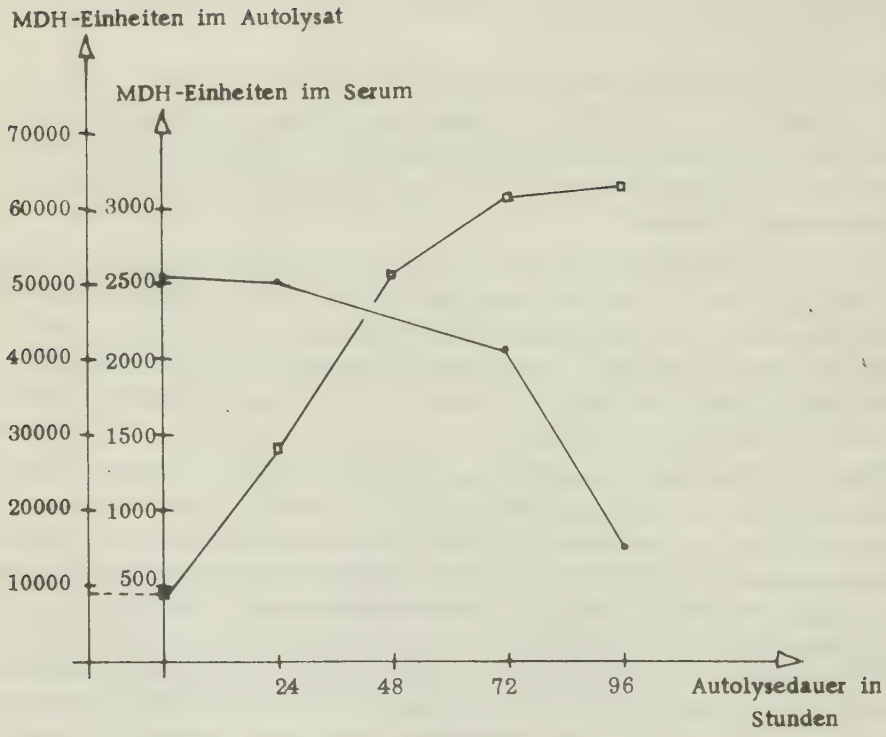
Entsprechend dem Kurvenverlauf in Fig. 1 fallen die Serumfermente der Empfängertiere von deutlich erhöhten Anfangsaktivitäten auf normale Werte nach längerer Inkubation des Ausgangsmaterials ab. Allerdings werden sichere Normalwerte erst am 4. Tag nach Versuchsbeginn erreicht, während die Empfängertiere am 3. Tag - trotz normaler Serum-LDH - noch geringfügig erhöhte Serumwerte für MDH und GOT aufweisen.

(Hierfür ließ sich keine eindeutige Erklärung finden. Eine spezifische Wirkung des LDH-Agens ließ sich durch die gleichzeitig normalen SLDH-Werte ausschließen. Auch zeigten normale Empfängertiere nach Beimpfung mit Serum der betreffenden Versuchstiergruppe keine erhöhten MDH- oder GOT-Aktivitäten im Serum. Wir haben deshalb die Fermenterhöhung der MDH und GOT von Empfängertieren nach Injektion des 72-Stunden-Autolysats als einen unspezifischen Effekt unbekannter Ursache angesehen. Möglicherweise liegen auch die Werte noch an der oberen Grenze der Norm, da auch bei der Bestimmung der Serumwerte von MDH und GOT von Normaltieren starke Schwankungen auftraten).

Zum Verlauf der Serum-MDH-Kurve in Fig. 2 wäre noch zu bemerken, daß die Serumwerte der Empfängertiere nach Injektion des 24- und 48-Stunden-Autolysats stärkere Streuungen zeigten und teilweise höher lagen als die Werte der ersten Versuchstiergruppe nach Injektion des 0-Stunden-Autolysats.

Während im Tumormaterial die MDH- ähnlich der LDH - während der Autolyse rasch ansteigt und Werte bis zu 65 000 Einheiten erreicht, fällt die GOT-Aktivität im gleichen Zeitraum von 2 200 auf 1 200 Einheiten ab. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre der Abbau der GOT als einem hochmolekularen Eiweißkörper durch andere Fermente.

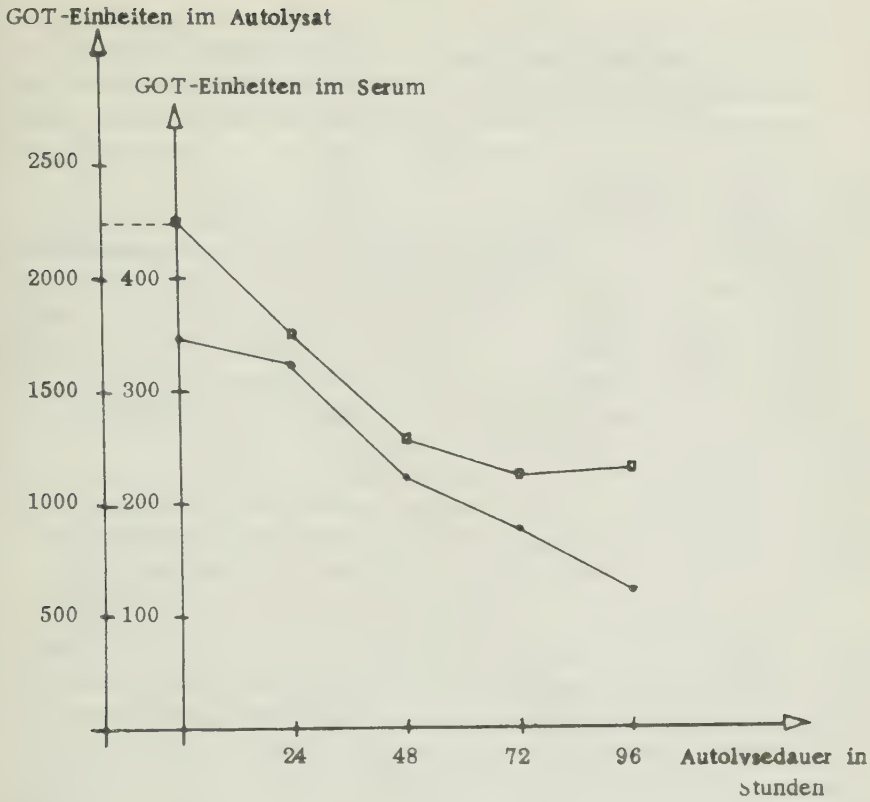
Zusammenfassend läßt sich bei einem Vergleich der Fig. 1, 2 und 3 folgendes feststellen:
Während im Tumorautolysat rasch ansteigende (LDH und MDH), bzw. stark erhöhte (GOT) Fermentaktivitäten meßbar waren, fielen die Serumfermente der



FIGUR 2

Verlauf der Serum-MDH der beimpften Empfängertiere nach 0- bis 96-stündiger Autolyse des Ascitestumors

MDH-Aktivität im Autolysat



FIGUR 3

Verlauf der Serum-GOT der beimpften Empfängertiere nach 0- bis 96-stündiger Autolyse des Ascitestumors.

GOT-Aktivität im Autolysat

mit diesem Autolysat beimpften Empfängertiere im gleichen Zeitraum von significant erhöhten bis auf normale Werte ab.

Trotz der oben erwähnten Einschränkungen - gering erhöhte Serumwerte für MDH und GOT von Empfängertieren nach 72-stündiger Autolyse des LDH-Agens - versuchten wir, aus dem Verlauf der Serumfermente LDH, MDH und GOT der Empfängermäuse nach Beimpfung mit dem zellfreien Autolysat des Ehrlich-Ascites-Tumors ein konstantes Verhaltensschema des LDH-Agens während der Autolyse abzuleiten:
Während der Inkubation des EAT bei 37°C wird das LDH-Agens innerhalb eines konstanten Zeitraums von 72 Stunden inaktiviert. Die fermentaktivierende Fähigkeit des LDH-Agens wird bereits nach 24 Stunden gegenüber der "Ausgangsvirulenz" am Beginn der Autolyse stark abgeschwächt. Nach 48 Stunden nimmt die aktivitätssteigernde Wirksamkeit weiter ab, bis sie nach 72- und 96-stündiger Autolyse völlig erloschen ist. Für die Abschwächung der fermentaktivierenden Fähigkeit des LDH-Agens während der Autolyse waren zwei Erklärungen möglich:
Als Folge der Inaktivierung einer zunehmenden Zahl von Agenspartikeln durch den Einfluß der Autolyse konnte ein Verdünnungseffekt eingetreten sein. Von anderen Autoren (A. GEORGII u. Mitarb. (13)) wurde jedoch noch nach starker Verdünnung (1 : 256) des Serums agensinfizierter Tiere ein deutlicher fermentsteigernder Effekt bei beimpften Empfängermäusen beobachtet.

Ein Verdünnungseffekt, also eine zu niedrige Konzentration des LDH-Agens im injizierten Material, als Ursache der verminderten fermentaktivierenden Fähigkeit des Agens, erschien auch durch folgende Überlegungen unwahrscheinlich:
Es wäre zu erwarten gewesen, daß das Agens durch Vermehrung in vivo - (in den beimpften Empfängermäusen) - eine höhere Konzentration und damit die ungeschwächte fermentaktivierende Fähigkeit wiedererlangt. Die mit dem 24- und 48-Stunden-Autolysat beimpften Empfängertiere zeigten jedoch auch 7 und 21 Tage nach der Injektion nur schwach erhöhte Serumfermente. Diese Fermentaktivitäten lagen deutlich unter vergleichbaren Werten, die bei den mit dem 0-Stunden-Autolysat beimpften Empfängertieren meßbar waren.

Eine andere, wahrscheinlichere Erklärung für die Abschwächung der fermentaktivierenden Wirksamkeit des LDH-Agens lag in der Möglichkeit einer zunehmenden, qualitativen Schädigung des Agens durch die während der Autolyse entstehenden Abbauprodukte, bzw. die aus den Tumorzellen freigesetzten Fermente.

Es stellte sich nun die Frage, ob und wie sich das Verhalten des LDH-Agens während der Autolyse ändert, wenn diese mögliche Schädigung durch Abbauprodukte oder Zellfermente wegfällt. Deshalb untersuchten wir, wie sich das

Agens während der Inkubation in einem zellfreien Medium verhält. Als Ausgangsmaterial verwendeten wir wie in den früheren Versuchen den Ehrlich-Ascites-Tumor, um zu vergleichbaren Ergebnissen zu gelangen.

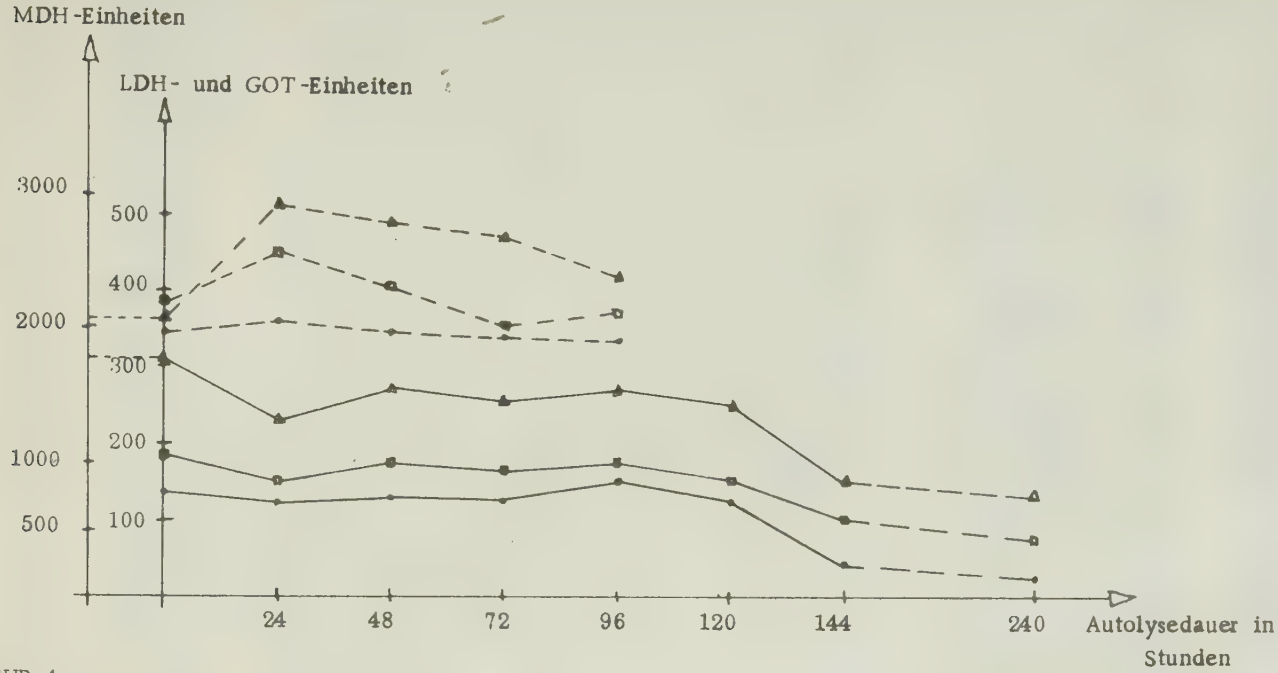
Steril entnommener EAT wurde zweimal 20 Minuten bei 6000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde nach Zusatz von Streptomycin bei 37°C inkubiert. Entsprechend den früheren Versuchen erfolgte die Beimpfung der Empfängertiere, die Bestimmung der Fermentaktivitäten im Serum und die Auswertung.

Fig. 4 (S. 14) zeigt uns das Verhalten des LDH-Agens während der Autolyse des zellfreien Überstandes des EAT, dargestellt durch den Verlauf der Serumfermente der beimpften Empfängermäuse. Ebenso wie in den früheren Versuchen wurde der Fermentgehalt in der Ausgangslösung bestimmt. Die Serumfermente der Empfängertiere bleiben bis zum 5. Tag der Inkubation des Ausgangsmaterials bei der LDH um etwa das 5-fache, bei der MDH und GOT um das 1 1/2- bis 2-fache des Normalwertes erhöht. Die Steigerung der Enzymaktivität im Serum der Empfängertiere hielt für die Dauer des Versuchs von 3 Wochen an. Nach Überimpfung von Serum dieser Versuchstiere an unbehandelte Empfängermäuse zeigten diese ebenfalls significant gesteigerte Fermentaktivitäten im Serum.
Nach 6- und 10-tägiger Inkubation der Ausgangslösung lagen die Serumfermente der Empfängertiere im Normbereich.

Im Gegensatz zu den Versuchen mit zellhaltigem Tumormaterial hielten sich die Fermentaktivitäten im Autolysat auf annähernd gleicher Höhe, mit Ausnahme der MDH, die gegenüber dem Ausgangswert zunächst leicht anstieg. Eine Erklärung für die während der Versuchsdauer gleichmäßig hohen Fermentaktivitäten in der Ausgangslösung ergab sich aus dem Fehlen der Tumorzellen, aus denen zusätzliche Fermente in das flüssige Medium freigesetzt werden konnten.

Wie der Versuch zeigt, wird das LDH-Agens während der Autolyse des zellfreien Überstandes des EAT erst nach 6 Tagen inaktiviert. In einer anderen Arbeit (I. LENZ (20)) wurde eine Inaktivierung des LDH-Agens während der Inkubation in zellfreien Medien (Hankslösung und zellfreies Nährmedium) bereits nach 5 Tagen beschrieben. Diese Abweichung könnte, abgesehen von der unterschiedlichen Konzentration des Agens in den verschiedenen Medien, auch den mehr oder weniger schädlichen Einfluß dieser Medien auf das Agens erklären.

Zusammenfassend läßt sich bei einem Vergleich von Fig. 1-3 und Fig. 4 feststellen, daß das LDH-Agens während der Inkubation des zellfreien Asciteszentrifugats significant für 3 Tage länger nachweisbar ist als während der Autolyse des unbehandelten, zellhaltigen Ehrlich-Ascites-Tumors.



FIGUR 4

Verlauf der Serumfermente der beimpften Empfängertiere nach 0- bis 240-stündiger Autolyse des zellfreien Ascites-zentrifugats.

SLDH
SMDH
SGOT

LDH
MDH
GOT

Fermentaktivitäten im Autolysat

Damit ließ sich unsere Annahme, daß die Tumorzellen des EAT während der Autolyse auf das LDH-Agens einen schädigenden Einfluß ausüben, klar bestätigen.
Wir nahmen deshalb an, daß aus den Tumorzellen während der Autolyse in steigender Konzentration ein Faktor freigesetzt wird, der die fermentaktivierende Fähigkeit des LDH-Agens in zunehmendem Maß abschwächt und nach Erreichen einer bestimmten Grenzkonzentration völlig aufhebt.

Fehlt dieser "agensinaktivierende Zellfaktor" - wie bei der Autolyse des zellfreien Asciteszentrifugats - dann wird die fermentaktivierende Fähigkeit des Agens allein durch seine "Autolyseresistenzzeit", d.h. die Lebensdauer in einem sterilen Medium ohne lebende Zellen, beeinflußt. (Auch die über 5 Tage annähernd gleichmäßig erhöhten Serumfermente der Empfängertiere - s. Fig. 4 - lassen auf eine relative Intaktheit des LDH-Agens in diesem Zeitraum schließen und auf das Fehlen von agensschädigenden Faktoren im Ausgangsmaterial).

Nachdem unsere Versuchsergebnisse auf die Existenz eines aus den Zellen des Ehrlich-Ascites-Tumors stammenden, agensinaktivierenden Faktors hinweisen, versuchten wir, Näheres über Wirkungsweise, Vorkommen und Eigenschaften dieses Zellfaktors zu erfahren.

Nach unseren früheren Versuchen hatten wir eine "Inaktivierung" des LDH-Agens angenommen, wenn bei den beimpften Empfängertieren eine LDH-Erhöhung im Serum nicht mehr nachweisbar war. Rauen und Hupe berichteten jedoch über Versuche, bei denen durch Serumüberimpfung das LDH-Agens von Mäusen auf Ratten und von diesen wiederum auf Mäuse übertragen worden war (H.M. RAUEN und H. HUPE (30)). Während die Ratten normale LDH-Werte im Serum zeigten, ließ sich bei den innerhalb von 5 Tagen mit Rattenserum beimpften Mäusen eine significant erhöhte Serum-LDH wieder nachweisen. Das LDH-Agens war also im Organismus der Ratte während eines bestimmten Zeitraums lebensfähig, ohne durch eine Fermenterhöhung nachweisbar zu sein. Diese Fermentaktivierung durch das Agens mußte durch eine Art von Hemmungsmechanismus verhindert worden sein, während das Agens selbst unbeeinflußt blieb. Es war denkbar, daß bei der "Inaktivierung" des LDH-Agens während der Autolyse des Ehrlich-Ascites-Tumors ein ähnlicher "Inhibitoreffekt" eine Rolle spielt:
Der aus den Tumorzellen in steigender Konzentration freigesetzte "agensinaktivierende Zellfaktor" würde als Inhibitor die fermentaktivierende Fähigkeit des LDH-Agens in zunehmendem Maß neutralisieren. Das Agens selbst bliebe dabei zunächst unbeeinflußt und würde erst am 6. Inkubationstag - wie früher diskutiert - durch den Einfluß der Autolyse zerstört.

Die andere Möglichkeit für die Inaktivierung des LDH-Agens nach 3-tägiger Autolyse des Ehrlich-Ascites-Tumors war die schon früher erwähnte Schädigung und der schließliche Abbau des Agens durch einen fermentähnlichen Zellfaktor.

Bei der Untersuchung über die Natur des Zellfaktors und seine Einwirkung auf das LDH-Agens gingen wir von folgenden Überlegungen aus:
Nach unseren früheren Versuchen ist aus den Tumorzellen des EAT nach 3-tägiger Autolyse eine für die "Inaktivierung" des LDH-Agens ausreichende Menge des Zellfaktors freigesetzt worden.
Eine Freisetzung dieses Zellfaktors mußte auch während der Inkubation der zentrifugierten Tumorzellen ohne agenshaltigen Überstand erfolgen. Wird nun nach 3-tägiger Autolyse der abzentrifugierten Tumorzellen agenshaltiger, zellfreier Überstand hinzugefügt, so muß ebenfalls eine "Inaktivierung" des LDH-Agens eintreten.
Erfolgt diese "Inaktivierung" sofort oder nach sehr kurzer Zeit, so konnte ein Inhibitoreffekt des Zellfaktors vermutet werden, der das Ansteigen der Serumfermente der Empfängertiere verhindert, ohne das Agens zu schädigen. Trat die "Inaktivierung" jedoch erst nach einer noch unbekannten Einwirkungszeit des in ausreichender Konzentration vorhandenen Zellfaktors auf das LDH-Agens ein, dann erschien ein fermentativer Abbau des Agens durch den Zellfaktor wahrscheinlich.

In der früher besprochenen Weise abzentrifugierte Ehrlich-Ascites-Tumorzellen wurden nach Abgießen des Überstandes bei 37°C inkubiert. Nach 3-tägiger Autolyse der Zellen wurde frischer, zellfreier, agenshaltiger Überstand in der ursprünglich vorhandenen Menge hinzugefügt. Nach Herstellung einer Zellsuspension durch Aufrühren und Schütteln wurde das Material erneut bei 37°C inkubiert. Nach 0-, 1-, 3- und 24-stündiger Autolyse wurde in der früher besprochenen Weise zellfreier Überstand an Empfängertiere injiziert und die Fermentaktivitäten im Serum bestimmt.
Die Ergebnisse zeigt Tabelle 1.

TABELLE 1

Serum-LDH der beimpften Empfängertiere nach 0- bis 24-stündiger Einwirkungszeit des agensinaktivierenden Zellfaktors nach seiner Freisetzung aus autolysierten Tumorzellen auf das LDH-Agens.

Einwirkungszeit des Zellfaktors in Stunden	0	1	3	24
SLDH-Einheiten d. Empfängertiere	220 E	132 E	15 E	20 E

Nach 0-stündiger Autolyse des Ausgangsmaterials ist die Serum-LDH der beimpften Empfängertiere um etwa das 10-fache des Normalwertes erhöht. Nach

1-stündiger Inkubation des Materials zeigt sich bereits ein deutlicher Abfall der Serum-LDH auf nurmehr das 6-fache der Norm. Die mit dem 3-Stunden-Autolysat beimpften Empfängertiere haben eine normale LDH-Aktivität im Serum.
Unsere Ergebnisse sprechen für einen fermentativen Abbau des LDH-Agens durch den während der Autolyse aus den Tumorzellen freigesetzten Zellfaktor. Dieser fermentative Abbau ist nach 1- bis 3-stündiger Einwirkungszeit des Zellfaktors auf das LDH-Agens abgeschlossen. Der Abfall der Serum-LDH der mit dem 1-Stunden-Autolysat beimpften Empfängertiere gegenüber den Serumfermentaktivitäten der ersten Versuchstiergruppe (0-Stunden-Autolysat) dürfte auf die früher diskutierte Schädigung des LDH-Agens durch den Zellfaktor zurückzuführen sein.

Ein Inhibitoreffekt des Zellfaktors auf die Serum-LDH der Empfängertiere konnte nicht nachgewiesen werden. Dieser Effekt hätte spätestens bei den mit dem 1-Stunden-Autolysat beimpften Empfängertieren eintreten und einen Anstieg der Serum-LDH verhindern müssen.

Nachdem unsere Versuche Hinweise über Natur und Wirkungsweise des agensinaktivierenden Zellfaktors erbracht hatten, stellte sich die Frage, ob dieser Faktor auch aus anderen Zellarten während der Autolyse freigesetzt werden kann.
Leber-, Nieren- und Muskelzellen wurden daraufhin untersucht.

Wie andere Autoren berichten (V. RILEY u. Mitarb. (31), P.G.W. PLAGEMAN u. Mitarb. (28), J. Martyn BAILY u. Mitarb. (2)), läßt sich das LDH-Agens in allen Organen eines agensinfizierten Tieres nachweisen. Wir prüften deshalb zunächst, wie lange das Agens während der Autolyse agenshaltiger Organe lebensfähig ist.

Die steril entnommene Leber bzw. Niere eines agensinfizierten Tieres wurden nach Zerkleinerung im Homogenisator unter Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung nach Streptomycinzugabe bei 37 °C inkubiert.

Nach Beimpfung der Empfängertiere mit zellfreiem Überstand wurden die LDH-Aktivitäten im Serum in der früher angegebenen Weise bestimmt.

TABELLE 2

Autolyse von Organen agensinfizierter Mäuse:
Serum-LDH der beimpften Empfängertiere nach 0- bis 48-stündiger Autolyse des Ausgangsmaterials.
(Zahlen in der Tabelle bedeuten SLDH-Einheiten der beimpften Empfängertiere)

	Autolysedauer in Stunden		
	0	24	48
NIERE	165 E	28 E	18 E
LEBER	128 E	20 E	26 E

Tab. 2 zeigt die Serum-LDH-Aktivitäten der beimpften Empfängertiere nach 0- bis 48-stündiger Autolyse der untersuchten Organe.

Bereits nach 24-stündiger Inkubation des Ausgangsmaterials ist die SLDH der Empfängertiere auf Normalwerte abgefallen. Nach den vorausgegangenen Versuchen mußten wir also eine Inaktivierung des LDH-Agens annehmen. Auffallend war die kurze Inaktivierungszeit des Agens von nur 24 Stunden, während sie bei der Autolyse der Ehrlich-Ascites-Tumorzellen 72 Stunden betrug. Hierauf wird in den folgenden Abschnitten noch eingegangen werden.

In einem zweiten Versuch wurde Leber- und Muskelgewebe einer unbehandelten Spendermaus nach Zerkleinerung im Homogenisator mit zellfreiem, agenshaltigem Überstand des EAT versetzt und bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Nach 0- bis 96-stündiger Autolyse des Ausgangsmaterials wurde zellfreies Zentrifugat an normale Empfängermäuse injiziert und die Serumfermente bestimmt. Die Ergebnisse zeigt Fig. 5 (S. 20).

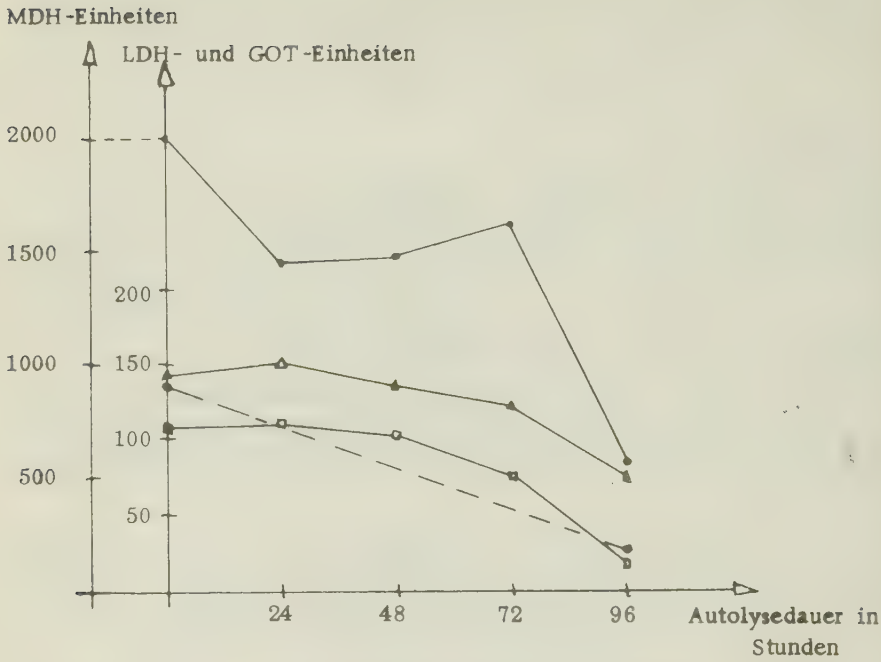
Bei der Autolyse mit agenshaltigem Ascitesüberstand ergibt sich für die Serumfermente der beimpften Empfängertiere ein ähnlicher, abfallender Verlauf wie bei den entsprechenden Autolyseversuchen mit Ehrlich-Ascites-Tumorzellen (s. Fig. 1-3). Allerdings sind die Serumfermente erst am 4. Tag der Inkubation des Ausgangsmaterials auf Normalwerte zurückgegangen. Auch hierauf werden wir noch in den nächsten Abschnitten eingehen.

Während der Autolyse von agenshaltigem Überstand mit Muskelzellen zeigen die beimpften Empfängertiere ebenfalls zunächst eine hohe Serum-LDH-Aktivität, die nach 4-tägiger Inkubation des Ausgangsmaterials auf Normalwerte abgefallen ist.

Wie wir in einem früheren Versuch nachweisen konnten, wird das LDH-Agens während der Inkubation zellfreien Asciteszentrifugats nach 6 Tagen inaktiviert. (s. Fig. 4). Die "Autolyseresistenzzeit" des Agens beträgt also 5 Tage, wenn keine zusätzlichen, schädigenden Faktoren auf das Agens einwirken.

Nach Zusatz von normalem, d.h. nicht agensinfiziertem Leber-, Nieren- oder Muskelgewebe zum inkubierten, zellfreien, agenshaltigen Medium, erfolgte die Inaktivierung des LDH-Agens aber bereits nach 4 Tagen - und während der Autolyse agenshaltiger Organe schon nach 24 Stunden.

Wir nahmen deshalb an, daß die beschleunigte Inaktivierung des LDH-Agens auf den aus diesen Zellen freigesetzten, agensinaktivierenden Zellfaktor zurückzuführen ist.



FIGUR 5

Verlauf der Serumfermente der beimpften Empfängertiere nach 0- bis 96-stündiger Autolyse von Leber- und Muskelzellen mit zellfreiem Asciteszentrifugat.

SLDH
SMDH
SGOT
} Leberzellen

SLDH Muskelzellen

Bei der Autolyse von agenshaltigen Organen fiel (im Vergleich zu früheren Versuchen) die stark verkürzte Inaktivierungszeit des LDH-Agens von 24 Stunden auf. Es erschien möglich, daß die Konzentration des Agens in diesen Organen relativ gering ist, gemessen an der Anzahl der Zellen, die den agensinaktivierenden Zellfaktor freisetzen und daß deshalb eine schnellere Inaktivierung des Agens eintritt.
Wir untersuchten deshalb, ob sich eine Änderung des Konzentrationsverhältnisses von agensinaktivierendem Zellfaktor und LDH-Agens auf die Inaktivierungszeit des Agens auswirkt.

Für unsere Zwecke schien es ausreichend, dieses Verhältnis von Zellen (= dem agensinaktivierenden Faktor) und agenshaltigem Überstand durch grob-mechanische Maßnahmen zu verändern.

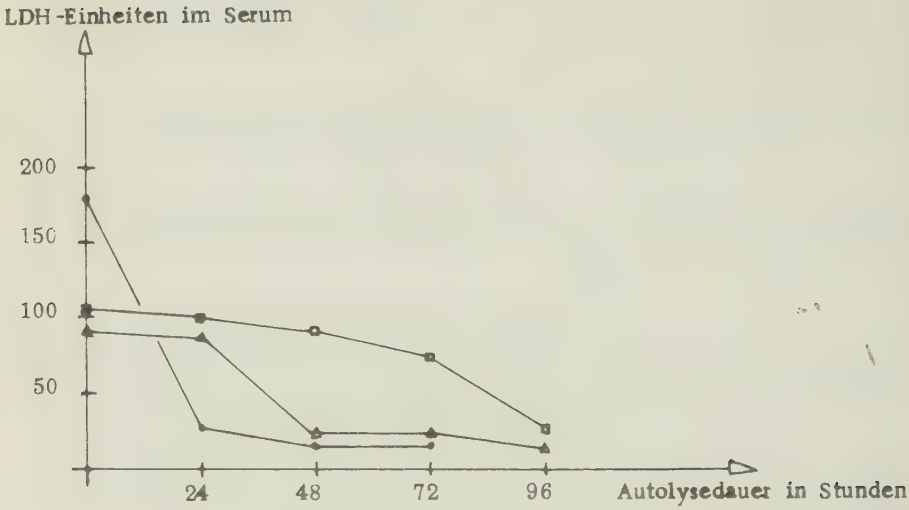
Jeweils 10 ccm steril entnommenen Ehrlich-Ascites-Tumors wurden in mit einer Meßskala versehenen Reagenzgläsern zentrifugiert. Das Verhältnis der zentrifugierten Zellen zum Überstand betrug angenähert 1 : 10. Nach Umgießen des Überstandes betrug das Verhältnis von Zellen und Überstand im ersten Glas etwa 1 : 5, im zweiten Glas 1 : 15. Nach Herstellen einer Zellsuspension durch Aufrühren der Tumorzellen und Zusatz von Streptomycin wurden die Lösungen bei 37°C inkubiert. Das weitere Vorgehen entsprach den früheren Versuchen.

Der Verlauf der Serum-LDH der beimpften Empfängertiere ist in Fig. 6 (S. 22 dargestellt.

Beimpfung mit zellfreiem Überstand des Autolysats aus Glas 1 (Verhältnis von Zellen und agenshaltigem Überstand 1 : 15) bewirkt noch nach 72 Stunden bei den beimpften Empfängertieren eine Steigerung der Serum-LDH. Dagegen zeigen die Empfängertiere nach Beimpfung mit dem Autolysat aus Glas 2 (Verhältnis von Zellen und Überstand 1 : 5) bereits nach 48-stündiger Inkubation des Ausgangsmaterials normale SLDH-Werte. (Zum Vergleich ist in Fig. 6 noch einmal der Verlauf der Serumfermente von Empfängertieren nach Beimpfung mit dem Autolysat der Leber einer agensinfizierten Spendermaus dargestellt. S. auch S. 18).

Unsere Ergebnisse bestätigen, daß die Inaktivierungszeit des zusammen mit Zellen autolysierten LDH-Agens abhängig ist von der Anzahl dieser Zellen und der Menge des agenshaltigen Überstandes. Sie ist umso kürzer, je mehr dieses Verhältnis zugunsten der Zellen und damit des agensinaktivierenden Zellfaktors verschoben ist. Die kürzeste Inaktivierungszeit des Agens findet sich danach bei der Autolyse agenshaltiger Organe.

Auch die Inaktivierung des LDH-Agens während der Autolyse von Leberzellen mit agenshaltigem Überstand - s. Fig. 5 - nach 4 Tagen läßt sich jetzt durch



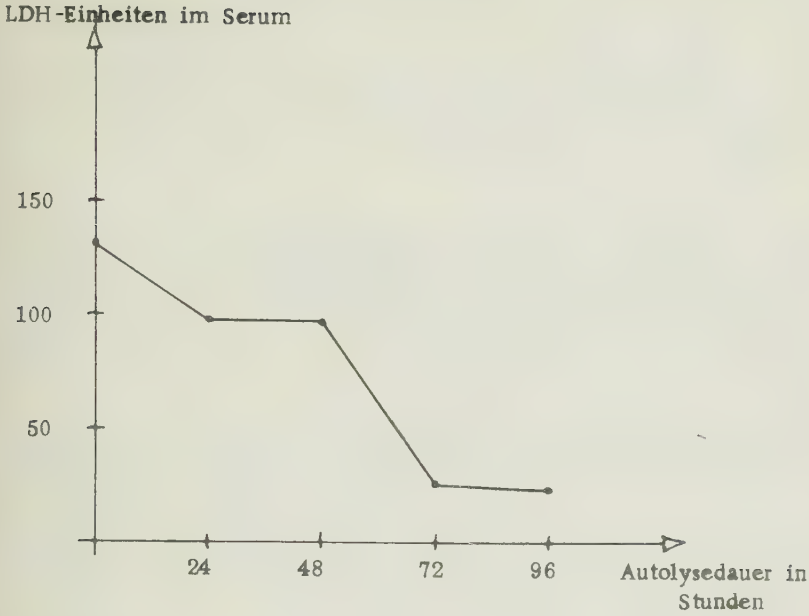
FIGUR 6

Verlauf der Serum-LDH der beimpften Empfängertiere nach 0- bis 96-stündiger Autolyse des Ascitestumors - (nach Änderung des Verhältnisses von Tumorzellen und Ascitesflüssigkeit) - und nach 0- bis 72-stündiger Autolyse der Leber einer agensinfizierten Maus.

●———● Verhältnis der Tumorzellen zur Ascitesflüssigkeit 1 : 5

□———□ Verhältnis der Tumorzellen zur Ascitesflüssigkeit 1 : 15

●- - - -● Leber einer agensinfizierten Maus



FIGUR 7

Verlauf der Serum-LDH der beimpften Empfängertiere nach 0- bis 96-stündiger Autolyse des Ascitestumors nach mechanischer Zerstörung der Tumorzellmembran.

eine zufällig zu niedrige Konzentration der Leberzellen im Autolysat erklären.

Die Änderung des Verhältnisses von Zellen und agenshaltigem Überstand muß jedoch einen bestimmten Grenzwert überschreiten, damit eine um 24 Stunden verlängerte oder verkürzte Inaktivierungszeit des LDH-Agens resultiert:
Auch im unbehandelten Ehrlich-Ascites-Tumor schwankt das Verhältnis von Zellen und Überstand zwischen 1 : 6 und 1 : 10; bei den früheren Versuchen wurde jedoch stets eine gleichbleibende Inaktivierungszeit des LDH-Agens von 3 Tagen gefunden.

Bei unseren Autolyseversuchen mit Organen agensinfizierter Mäuse (s. Tab. 2) war die Frage aufgetreten, ob durch die mechanische Zerkleinerung der Gewebe eine Zerstörung der Zellmembran eintritt. Hieraus könnte eine beschleunigte Freisetzung des agensinaktivierenden Faktors und ein schnellerer Abbau des LDH-Agens resultieren. Auch die Ergebnisse des letzten Versuchs (s. Fig. 6) sind möglicherweise durch Zellzerstörungen beim Zentrifugieren und Wiederaufrühren beeinflußt worden.

Wir untersuchten deshalb, ob bei der Autolyse von Zellen mit agenshaltigem Überstand die mechanische Zerstörung der Zellmembran einen rascheren Abbau des Agens bewirkt. Um eine Vergleichsmöglichkeit zu haben, verwendeten wir die Zellen des Ehrlich-Ascites-Tumors, da bei der Autolyse des unbehandelten Tumors eine konstante Inaktivierungszeit des LDH-Agens von 3 Tagen gefunden wurde (s. Fig. 1).

Zentrifugierte Tumorzellen wurden 5 Minuten im Homogenisator zerkleinert; in einem Objektträgerausstrich wurde die Zerstörung der Zellmembran festgestellt. Nach Zugabe des abzentrifugierten Überstandes und Herstellung einer Suspension durch Wiederaufrühren der Zellbestandteile wurde das Material bei 37°C inkubiert. Das weitere Vorgehen entsprach den früheren Versuchen.

Die Serum-LDH der beimpften Empfängertiere in Fig. 7 (S. 23) zeigt ähnlich wie in Fig. 1 einen sinkenden Verlauf und erreicht ebenfalls am 3. Tag der Autolyse Normalwerte. Eine verkürzte Inaktivierungszeit, also ein beschleunigter Abbau des LDH-Agens durch die vermutete schnellere Freisetzung des agensinaktivierenden Zellfaktors, war nicht nachweisbar.
Dadurch erschien es unwahrscheinlich, daß der agensinaktivierende Zellfaktor in fertiger Form im Zytoplasma der Zellen vorliegt und durch die im Verlauf der Autolyse durchlässig gewordene Zellmembran freigesetzt wird, wie wir nach den ersten Versuchen angenommen hatten. In diesem Fall müßte nach Zerstörung der Zellmembran eine rasche Freisetzung des Zellfaktors und damit eine beschleunigte Inaktivierung des LDH-Agens erfolgen.

Andererseits läßt sich auch die Möglichkeit ausschließen, daß der Zellfaktor aus während der Autolyse von den Zellen freigesetzten Vorstufen durch weiteren

Abbau erst gebildet wird. Da bei der Zerstörung der Zellmembran diese Vorstufen auf einmal freigesetzt würden, müßte auch in kürzerer Zeit eine verstärkte Bildung des Zellfaktors und damit eine verkürzte Inaktivierungszeit des LDH-Agens erfolgen.
Auch die Annahme, daß die Bildung des Zellfaktors eine Zeit von etwa 3 Tagen benötigt, wird widerlegt durch unsere früheren Versuche (s. Fig. 6), bei denen die Inaktivierung des LDH-Agens und damit die Wirksamkeit des Zellfaktors bereits nach 24 und 48 Stunden, in anderen Fällen erst nach 96 Stunden nachweisbar war.

Es blieb also die schon früher (s. S. 15) diskutierte Möglichkeit, daß kurz nach Beginn der Autolyse eine Freilegung des agensinaktivierenden Faktors aus den Zellen einsetzt, dessen Konzentration ständig ansteigt und daß die Inaktivierung des LDH-Agens - entsprechend seiner Konzentration - nach kürzerer oder längerer Zeit eintritt.

Da bei der mechanischen Zerkleinerung der Tumorzellen der intakt gebliebene Zellkern als einziger Zellbestandteil für eine langsame Freisetzung des Zellfaktors in Frage kam, sahen wir den Zellkern als möglichen Entstehungsort des agensinaktivierenden Faktors an.

Nach einem früheren Versuch (s.S. 17) konnten wir annehmen, daß bei der Inaktivierung des LDH-Agens ein fermentativer Abbau durch den Zellfaktor stattfindet. Wir untersuchten deshalb, ob sich eine Inaktivierung des Agens durch Zusatz von Fermentpräparaten zum zellfreien, agenshaltigen Medium erreichen läßt.

Es wurden ein Fermentmischpräparat aus proteolytischen Enzymen und eine 0,5 %-ige Trypsinlösung verwendet. Je 2 ccm zellfreien Zentrifugats des Ehrlich-Ascites-Tumors wurden mit 1 ccm der Fermentlösungen versetzt und nach 0- bis 3-tägiger Inkubation bei 37°C an Empfängertiere injiziert. Als Kontrollversuch diente der gleiche Ansatz mit physiologischer Kochsalzlösung anstelle des agenshaltigen Überstandes.
Tab. 3 zeigt die Serum-LDH-Aktivitäten der beimpften Empfängertiere.

TABELLE 3

Serum-LDH der beimpften Empfängertiere nach 0- bis 72-stündiger Autolyse von zellfreiem Asciteszentrifugat mit Enzymlösungen. (Zahlen in der Tab. bedeuten SLDH-Einheiten der beimpften Empfängertiere)

	Enzymlösung + agenshaltiger Überstand		Enzymlösung + 0,9 %-ige NaCl-Lösung	
Autolysedauer in Stunden	WOBE	Trypsin	WOBE	Trypsin
0	125 E	143 E	27 E	18 E
72	138 E	154 E	20 E	30 E

Wie Tab. 3 zeigt, ist die Serum-LDH der Empfängertiere des Hauptversuchs nach 72-stündiger Inkubation der Ausgangslösung noch deutlich erhöht, während die Empfängertiere des Kontrollversuchs normale SLDH-Werte aufweisen.

Um sicher zu gehen, daß das verwendete Trypsin unter den gegebenen Bedingungen mit dem gegebenen Substrat reagiert, wurde ein gleicher Versuchsansatz - mit agenshaltigem Ascitesüberstand als Substrat - auf die Veränderung des Tyrosin-Tryptophan-Quotienten als Indikator für die Wirksamkeit des Trypsins untersucht. Gleichzeitig wurde ein Blindversuch ohne Trypsinzusatz durchgeführt.

Während der 3-tägigen Inkubation der trypsinhaltigen Lösung ließ sich ein deutlicher Anstieg des Tyrosin-Tryptophan-Quotienten feststellen, der beim Blindversuch nicht nachweisbar war.
Nach Ausschluß einer eventuellen toxischen Wirkung der verwendeten Fermentlösungen und nach dem Nachweis der Trypsinwirksamkeit unter den gegebenen Bedingungen, ließ sich eine Beeinflussung des LDH-Agens durch die untersuchten Fermentpräparate ausschließen.

Zusammenfassung:

1) Es wird das Verhalten des Lactat-Dehydrogenase erhöhenden Agens während der Autolyse des Ehrlich-Ascites-Tumors und der Organe agensinfizierter Mäuse untersucht.

2) Als Nachweis des LDH-Agens diente die Aktivitätssteigerung von Serumfermenten (LDH, MDH, GOT) der mit dem Autolysat beimpften Empfängertiere.

3) Bei der Autolyse des Ehrlich-Ascites-Tumors erfolgt die Inaktivierung des LDH-Agens nach 3 Tagen; bei der Inkubation des zellfreien Asciteszentrifugats nach 6 Tagen.

4) Hieraus wird die Theorie abgeleitet, daß ein während der Autolyse aus den Tumorzellen freigesetzter Zellfaktor die Inaktivierung des LDH-Agens beschleunigt. Untersuchungen über die Einwirkungszeit dieses Zellfaktors auf das LDH-Agens bis zum Eintritt der Inaktivierung lassen einen fermentativen Abbau des Agens durch den Zellfaktor wahrscheinlich erscheinen. Dagegen ließ sich eine Inhibitorwirkung des Zellfaktors auf die Serumfermente der beimpften Empfängertiere ausschließen.

5) Es wird nachgewiesen, daß der agensinaktivierende Zellfaktor von verschiedenen Zellarten (Leber, Niere, Muskel) während der Autolyse freigesetzt wird und daß die Inaktivierungszeit des LDH-Agens durch das Mengenverhältnis von Zellfaktor und Agens bestimmt wird.

6) Durch mechanische Zerstörung der Zellmembran der inkubierten Zellen wird die Freisetzung des agensinaktivierenden Zellfaktors nicht beschleunigt; es tritt keine vorzeitige Inaktivierung des LDH-Agens ein.

7) Eine Beeinflussung des LDH-Agens durch zwei untersuchte Fermentpräparate mit proteolytischer Aktivität ließ sich nicht nachweisen.

Herrn Prof. Dr. W. BÜNGELER, Direktor des Pathologischen Institutes, danke ich für die Übernahme des Referates.

Die Arbeit wurde in der chemischen Abteilung des Institutes ausgeführt.

Herrn Dr. phil. Dr. med. H. BAYERLE, Leiter der chemischen Abteilung, danke ich für die Überlassung des Themas und die zahlreichen Anregungen und Ratschläge.

Fräulein Ingrid TEICHERT und Fräulein Marlies SCHNEIDER danke ich für die Hilfe bei der Durchführung der Versuche.

LITERATUR

1 ADAMS, D.H., ROWSON, K.E.K., and SALAMAN, M.H. — The effect of tumors, ob leukemia and of some viruses associated with them, on the plasma lactic dehydrogenase activity of mice. Brit. J. Cancer 15, 860 (1961)

2 BAILEY, J. Martyn, STEARMAN, Mandell, CLOUGH, John — LDH-Levels in Blood and Tissue of Mice infected with an LDH-Agent. Proc. Soc. Biol. and Med. 114, 148 (1963)

3 BAILEY, J.M., CLOUGH, J., STEARMAN, M. — Clearance of Plasma Enzymes in Normal and LDH-Agent Infected Mice. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 117, 350 (1964)

4 BAYERLE, H., GEORGII, A., RICHARD, K.E. — Über die Aktivität von Serumfermenten nach zellfreier Beimpfung mit Ehrlichschem Mäuseascitestumor. Klin. Wo. schr. 40, 920 (1962)

5 BAYERLE, H., GEORGII, A., JACOB, P. — Über das Verhalten des Lactat-Dehydrogenase aktivierenden Virus aus Mäusegeschwülsten bei der Autolyse. Zeitschr. für Krebsforschung 65, 171 (1962)

6 BLADEN, H.A.jr., NOTKINS, A.L. — Electron - microscopic demonstration of the Lactic Dehydrogenase Agent. Virology 21, 269 (1963)

7 CRISPENS, C.G. — Factors which influence normal values für Serum Lactic Dehydrogenase in mice. Experientia 19, 97 (1963)

8 CRISPENS, C.G. — A lactic dehydrogenase elevating agent in association with human neoplasms. Nature 199, 1202 (1963)

9 FRIEND, Ch., WROBLEWSKI, F. — Lactic Dehydrogenase Activity of Serum in mice with transplantable Leukemia. Science 124, 173 (1956)

10 FRIEND, Ch. — Cell free transmission in adult Swiss mice of a disease having the character of a Leukemia. J. of Exp. Med. 105, 307 (1957)

11 GRAFFI, A., BIELKA, H., FEY, F. — Leukämieerzeugung durch ein filtrierbares Agens aus malignen Tumoren. Acta haematologica 15, 145 (1956)

12 GEORGII, A., JÄGER, M., KROTH, H., BAYERLE, H. — Aktivitätsänderungen der Lactatdehydrogenase im Mäuseplasma durch Beimpfung mit virushaltigen Geschwulstfiltraten oder virushaltigen Gewebekulturen. Separatum Experientia 18, 71 (1962)

13 GEORGII, A., KROTH, H., BAYERLE, H. — Weitere Untersuchungen über die Aktivierung der LDH im Serum durch Geschwulstviren der Maus. Klin. Wo.schr. 40, 363 (1962)

14 GEORGII, A., BAYERLE, H., BRDICZKA, D., ZOBL, H. — Über ein die LDH im Serum aktivierendes Virus aus Geschwülsten der Maus. Zeitschr. f. Krebsforsch. 65, 334 (1963)

15 GEORGII, A. — Über das Lactatdehydrogenase erhöhende Virus in Laborgeschwülsten. Klin. Wo.schr. 42, 559 (1964)

16 GEORGII, A., LENZ, I., ZOBL, H. — Penetration of the placental barrier by the LDH-Elevating virus (Riley) and its behaviour in mouse embryo cultures following infection in utero. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 117, 322 (1964)

17 HILL, B.R., JORDAN, R.T. — Serum Lactic Dehydrogenase activity in mice with transplantable leukemia. Cancer Res. 17, 144 (1957)

18 HSIEH, K.M., BLUMENTHAL, H.T. — Serum Lactic Dehydrogenase levels in various disease states. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 91, 626 (1956)

19 LENTA, Sr. M. P. O. S. B., RIEHL, Sr. M. A. O. S. B. — Dehydrogenase studies of tissue from normal and tumorbearing mice: II Lactic and malic Dehydrogenases. Cancer Res. 9, 47 (1949)

20 LENZ, I. — Das LDH-erhöhende Virus aus Mäusegeschwülsten (Riley Virus): Versuche zur Virusvermehrung in verschiedenen Zellkulturen. Inaug. Diss. I. Lenz München 1965

21 MANSO, C., SUGIURA, K., WROBLEWSKI, F. — GR-Reductase and Lactic Dehydrogenase activities of tissues of rodents with transplantable tumors. Cancer Res. 18, 682 (1958)

22 MUNDY, J., WILLIAMS, P.C. — Transmissible agent associated with some mouse neoplasms. Science 134, 834 (1961)

23 NOTKINS, A.L., GREENFIELD, R.E. — Infection of tumor-bearing mice with the LD-Agent. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 109, 749 (1962)

25 NOTKINS, A.L., GREENFIELD, R.E., MARSHALL, D., BANE, L. — Multiple Enzyme changes in the plasma of normal and tumor-bearing mice following infection with the LD-Agent. Journal of Exper. Med. 117, 185 (1963)

24 NOTKINS, A.L., BERRY, R.J., MOLONEY, J.B., GREENFIELD, R.E. — Relationship of the LD-factor to certain murine tumors. Nature 193, 79 (1962)

26 NOTKINS, A.L., SCHEELE, M.D. and Chr. — Studies on the transmission and the excretion of the Lactic Dehydrogenase agent. Journal of Exper. Med. 118, 7 (1963)

27 PLAGEMAN, P.G.W., SWIM, H.E. WATANABE, M. — Plasma LD-elevating agent of mice: Effect on levels of additional enzymes. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 111, 749 (1962)

28 PLAGEMAN, P.G.W., SWIM, H.E. — Studies of the plasma LD-elevating virus (PLD EV) of mice. Proc. Am. Ass. Cancer Res. 4, 207 (1963)

29 PRECHTL, K. Über das fermenterhöhende Virus aus Laborgeschwülsten der Maus (Riley Virus): Virusinaktivierung durch Kälte, Hitze, Formol und Natriumdesoxycholat.
Inaug. Diss. K. Prechtl München 1965

30 RAUEN, H.M., HUPE, H. Das Lactatdehydrogenase-Agens im Blut tumortragender Mäuse.
Arzneimittelforschung (Drug Research) 13, 933 (1963)

31 RILEY, V., LILLY, F., HUERTO, E., BARDELL, D. Transmissible agent associated with 26 types of experimental mouse neoplasms.
Science 132, 545 (1960)

32 RILEY, V., WROBLEWSKI, F. Serial LD-activity in plasma of mice with growing or regressing tumors.
Science 132, 151 (1960)

33 RILEY, V. Adaptation of bleeding technique to rapid serial blood studies.
Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 104, 751 (1960)

34 RILEY, V., HUERTO, E., LILLY, F., BARDELL, D., LOVELESS. J.D., FITZMAURICE, Mary Anna Some characteristics of viruslike entities associated with thirty varieties of experimental tumors.
Proc. of Am. Ass. Cancer Res. 3, 262 (1961)

35 RILEY, V. Virus-Tumor Synergism.
Science 134, 666 (1961)

36 RILEY, V. Evidence for a minute infectious entity.
Proc. Am. Ass. Cancer Res. 4, 57 (1963)

37 TENNANT, R.W., WARD, Th.G. Pneumonie virus of mice (PVM) in cell culture.
Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 111, 395 (1962)

38 YAFFE, D. The distribution and in vitro propagation of an agent causing high plasma lactat dehydrogenase activity.
Cancer Res. 22, 573 (1962)

39 ZOBL, H.

Das Lactatdehydrogenase erhöhende Virus aus Mäusegeschwülsten (Riley Virus): Sein Vorkommen in einigen Geschwülsten und einige Eigenschaften bei seiner Übertragung.
Inaug. Diss. H. Zobl München 1965

LEBENSLAUF

Am 22.5.1937 wurde ich als Sohn des Reg. Bauassessors Carl Jacob und seiner Frau Alma in Berlin geboren. Nach der Volksschule in Alt-Aussee/Österreich und in Unterschleißheim bei München besuchte ich das Theresiengymnasium in München, wo ich 1957 die Reifeprüfung ablegte.

Nach dem Studium an der Medizinischen Fakultät der Universität in Göttingen, Freiburg und München legte ich 1963/64 in München das medizinische Staatsexamen ab.

Als Medizinalassistent war ich am Pathologischen Institut der Universität München und im Städtischen Krankenhaus Oberföhring tätig und arbeite zur Zeit in der Privat-Frauenklinik Dr. Boruth.